细胞极性与卵子成熟和胚胎发育的关系

王俊超 陈子江 *

(山东大学附属省立医院生殖医学中心, 山东省生殖医学重点实验室, 济南 250021)

摘要 细胞极性与许多细胞功能的行使关系密切。卵母细胞在发育至具备受精能力的成熟状态时, 在很大程度上已经成为一个高度极性化的细胞, 许多分子机制参与其极性形成。卵子发育、成熟和受精过程中极性形成的三条重要途径与早期胚胎发育的极性关系密切并起到重要的作用。

关键词 细胞极性; 卵母细胞; 卵子极性; 胚胎发育

细胞极性(cell polarity)指细胞在形态、蛋白质分布和细胞功能上的不对称。对不同种类进化保守细胞的研究表明, 细胞表面分子通过关键的分子通路影响细胞骨架的组装和蛋白质的运输, 从而产生细胞极性[1]。绝大多数生物细胞是极性化了的, 包括单细胞生物、多细胞生物和哺乳动物, 而极性细胞的形状却各不相同, 细胞形状的不同恰好与细胞具有不同功能密切相关。

早期胚胎的极性对发育至关重要, 因为它决定了整个机体的发育计划。许多种属胚胎的极性根源于卵子的空间极性, 但长久以来人们认为哺乳动物是个例外[2]。通常认为哺乳动物体形形成并不与卵子或早期胚胎中的轴性相关, 胚胎极性只是在原肠形成后才开始出现[3]。但是近来越来越多的证据表明: 哺乳动物胚胎发育的极性与卵子极性相吻合, 是卵子极性的延续[4]。尤其是卵子发育过程中形成的动物 / 植物轴(animal/vegetal axis, A/V 轴)极性, 它可能决定了胚胎和滋养层细胞的空间分布位置[5]。支持这一学说的证据主要来自于以下三个方面: 首先, 对经典模型生物的研究揭示了不对称轴的形成机制是高度进化保守的; 其次, 最近对卵子的研究表明卵子的发育和成熟过程中, 皮质、分子(mRNA 和蛋白质)和细胞器的分布有明显的不对称性; 最后需要强调的是, 卵子和卵巢体细胞之间空间和时间上的相互对话奠定了胚胎发育潜能的基础[6]。

在所有种属中卵子的成熟分裂过程都是绝对的不对称分裂。在鼠卵中, 卵子经过连续两次减数分裂, 产生两个极体和一个高度极性的卵母细胞[7]。第二个减数分裂纺锤体存在的皮质区域称为动物极(animal pole), 而富含内质网(endoplasmic reticulum, ER)的对侧为植物极 (vegetal pole), 伴随着这两极的 mRNA、蛋白质和细胞器的不对称分布形成了 A/V 轴。在许多哺乳动物中, 胚胎的正常发育依赖于卵子极性的建立。卵子的极性包括卵浆和卵膜的结构和分子极性, 是伴随着成熟过程中减数分裂纺锤体的极性迁移而产生的[8]。

本文就卵子发育、成熟和受精过程中出现的三条明显与极性形成相关的途径, 结合其形成对后期胚胎发育的影响和意义进行简要论述。

1 卵子发育中的细胞极性

首先是卵子发生过程中的生发泡(germinal vesicle, GV)的特殊性位置, 提前决定了A/V极性的建立方向。在多数极性细胞中, 核的位置限定了与不对称分裂功能相关的一系列分子和细胞器的组装。比如, 神经元轴突的延伸、上皮细胞中分泌器的极性化和信号区域的分布都与细胞核的位置密切相关[9,10]。在非哺乳动物卵子中, GV 的位置与 A/V 轴的建立有关, GV 偏于动物极的特殊位置正是第一或第二极体排出的位置。最近关于鼠卵研究表明, GV 通过微管组织中心(microtubule organizing centers, MTOCs)固定于动物极, GV的位置奠定了极体排出过程中不对称分裂发生的基础[11]。对哺乳动物卵巢中停滞的原始卵泡多数形态学研究表明, 卵子内有一个相对中心位置的GV和极性分布的Balbiani's小体, 但是否在卵子发生后期 GV 新出现并保持一种偏离中心的位置并不确定。在多数哺乳动物(如人, 牛, 猪, 猴子等)卵子中偏心的 GV 和卵子成熟过程中的皮质区减数分裂纺锤体的位置有平行关系, 而啮齿类动物卵子却有些例外, 纺锤体组装于中心性 GV 并随后迁

收稿日期: 2008-11-26 接受日期: 2009-07-16
山东省自然科学基金(重点项目)资助(No.Z2002C05)
* 通讯作者。Tel: 0531-85187856, E-mail: zjchen59@yahoo.com

移到皮质区域[12]。然而值得注意的是，关于鼠卵中心性GV的报道中，中心性GV卵多数已经脱离周围卵泡或是认为使其阻滞于减数分裂过程中的体外培养卵子。因此，多数文献支持哺乳动物的卵子GV是偏心的这一观点，尽管这是在卵子发生过程中后来出现的，而且这种皮质区固定的建立和维持机制并不明确。

Schroeder等[13]对金枪鱼卵的研究提到，中心体可与GV发生相互作用，卵子皮质有控制GV位置的作用，但哺乳动物中缺乏这方面的研究。鼠卵发育和成熟过程中，MTOCs的位置、数目、磷酸化和成核能力发生着复杂的变化，而且是否所有的哺乳动物卵子MTOCs都发生这种变化目前尚无确凿证据。仅有报道称鼠卵中存在一个优势的MTOCs，可调节GV表面和卵子皮质之间的关系[14]。因此，对于哺乳动物中偏心GV的产生和维持机制目前并无定论，MTOCs在调节GV锚定于皮质区域和沿着A/V轴的分子极性分布上可能起到了一定的作用。

2 卵子减数分裂中的细胞极性

鼠卵中第二个重要的极性线索即A/V轴的形成。A/V轴是卵子发育的关键轴，该轴的最终建立依赖于减数分裂的完成，因为极体排出的区域最终定位为动物极，而卵子的极端不对称分裂的前提条件是纺锤体必须形成于卵子皮质下方。卵子减数分裂的极性在第一次减数分裂(meiosis I, MI)时就开始出现，体现在MI的纺锤体和第一极体(polar body 1, P1)的位置上，接着其极性在第二次减数分裂(meiosis II, MII)的纺锤体位置和P2的位置上充分表现出来。也就是说，停滞于第二次减数分裂的卵子已经成为了一个高度极性的细胞。当然，卵子的极性也表现在线粒体、内质网、皮质颗粒和微绒毛的不对称分布上。

早期胚胎发育的极性根源于卵子极性，其证据来源于囊胚期两侧对称的中线平面坐标正好与A/V轴相对。尽管第二极体的位置在该平面上变换，它的位置有个预测性的趋势是位于胚胎区和胚外区域附近[15]，而且动物极的皮质区和卵浆物质均参与形成了与极体相连的囊胚区域[16]，同样植物极的卵浆物质形成了囊胚的对侧区域。这样，动物极和植物极来源的细胞开始沿着轴相对分布而形成胚胎极性，这种极性开始于早期卵裂阶段。

A/V轴是伴随着减数分裂的纺锤体的迁移和第一或第二极体的排出过程中，沿着细胞骨架或者特殊传输工具的分子和细胞器的不对称分布而建立的，但具体的分子机制目前知之甚少。鉴于细胞极性形成的高度保守性，对极性形成的许多认识来自于其他生物或细胞的研究(果蝇，线虫，T淋巴细胞和上皮细胞等)。在不同的细胞和种属中，三种保守的蛋白质复合体调节着细胞极性：the partitioning defective (Par), Scribble和Crumbs复合体[17,1]。其中极性复合体Par由Par3、Par6和aPKC组成，在不同类型细胞的极性中有重要作用，包括星形胶质细胞极性、酵母不对称分裂、神经元的轴突极性、上皮细胞的极性和鼠卵的极性[18~22]。不同的极性分子分布于卵子内不同区域，其中一个或多个蛋白质复合体通过分子间的相互作用参与或调节卵子极性的形成。

3 卵子受精与细胞极性

最后一个说明胚胎极性的线索与受精时精子穿入卵子的位置有关[23]。通过标记受精锥(fertilisation cone)——精子穿透时形成的短暂结构，或者直接标记精子本身，可以追踪精子穿入的卵膜部位在随后的细胞分裂中直到发育至囊胚期的命运。结果发现：首先，最初的卵裂平面与精子进入卵子表面(the egg surface, SEP)部位之间关系密切。SEP主要位于卵裂沟(cleavage furrow)附近，定位于卵裂的其中一个细胞表面。所以，可通过极体和SEP的位置预测第一次卵裂的平面，而且有SEP的卵裂球比另一个卵裂球细胞较早发生分裂，这就是著名的早期胚胎的不同步卵裂[23]。SEP的位置揭示了第一次卵裂平面的位置，进一步在囊胚期将胚胎和胚外组织分别开来[24]。近年来，有学者提出胚胎第一次卵裂平面并不是由SEP决定的，认为该平面与雌雄原核相对平面总是呈一定的正交关系[25]。但目前更为人接受的学说是胚胎的极性或者卵裂平面的决定形成于卵子减数分裂过程中[26]，是卵子固有极性的体现[27]。

Nelson[1]曾经提出的极性形成核心机制适用于一切细胞的极性形成。人们把它延伸到卵子极性上，希望能对今后的研究提供一定的帮助。卵子极性形成是分等级进行的，首先由细胞表面标志分子或者空间线索启动(周围颗粒细胞和细胞连接)，然后在细胞表面形成定向点(偏心GV和A/V轴)，这个极性轴从细胞表面通过组装和定向微丝和微管的核心机制传播到整个细胞。Rho家族中的小GTPase (Rho, Cdc42和Rac1)在细胞骨架组装中起决定性作用，它们是使微丝结构变化的主要机制和级联蛋白家族的主要成

员。微丝的聚集和级联蛋白的作用同样加强了 A/V 轴的组装和固定,微丝在轴附近的定位进而调节微管聚集(纺锤体)和方向定位。最后还有膜小泡运输到膜的不同位置,膜小泡的定向运输依赖于细胞骨架的组装和一系列运输机器(一些小 GTPase, 如 Sec4p 和 RalA)的募集。

综上所述, 卵子在发生、成熟和受精过程中都存在明显的极性,其中成熟分裂过程中形成的A/V轴对卵子的受精和胚胎发育有重要意义,影响着早期胚胎的极性形成和发育。尽管人们对卵子极性的形成的分子机制知之甚少,但通过保守的细胞极性形成原则, 可以推测卵子极性形成的可能机制。

参考文献(References)

[1] Nelson WJ. Adaptation of core mechanisms to generate cell polarity, *Nature*, 2003, 422 (6933): 766-774

[2] Gurden JB. The generation of diversity and pattern in animal development, *Cell*, 1992, 68(2): 185-199

[3] Beddington RS, Robertson EJ. Axis development and early asymmetric in mammals, *Cell*, 1999, 96(2): 195-209

[4] Zernicka-Goetz M. Patterning of the embryo: the first spatial decisions in the life of a mouse, *Development*, 2002, 129(4): 815-829

[5] Plusa B, Grabarek JB, Piotrowska K, *et al.* Site of the previous meiotic division defines cleavage orientation in the mouse embryo, *Nat Cell Biol*, 2002, 4(10): 811-815

[6] Albertini DF, Sanfins A, Combelles CM. Origins and manifestations of oocyte maturation competencies, *Reprod Biomed*, 2003, 6(4): 410-415

[7] Brunet S, Maro B. Cytoskeleton and cell cycle control during meiotic maturation of the mouse oocyte: intergrating time and apace, *Reproduction*, 2005, 130(6): 801-811

[8] Deng M, Kishikawa H, Yanagimachi R, *et al.* Chromatin-mediated cortical granule redistribution is responsible for the formation of the cortical granule-free domain in mouse eggs, *Dev Biol*, 2003, 257(1): 166-176

[9] Drubin DG, Nelson WJ. Origins of cell polarity, *Cell*, 1996, 84 (3): 335-44

[10] Wodarz A. Establishing celll polarity in development, *Nat Cell Biol*, 2002, 4(2): E39- E44

[11] Sanfins A, Lee GY, Plancha CE, *et al.* Distinctions in the meiotic spindle structure and assembly during *in vitro* and *in vivo* maturation of mouse oocytes, *Biol Reprod*, 2003, 69(6): 2059-2067

[12] Leader B, Lim H, Harrington A, *et al.* Formin-2, polyploidy, hypofertility and positioning of the meiotic spindle in mouse oocytes, *Nat Cell Biol*, 2002, 4(12): 921-928

[13] Schroeder TE. Cortical expressions of polarity in the starfish oocyte, *Dev Growth Differ*, 1985, 27(3): 311-321

[14] Carabatsos MJ, Sellitto C, Goodenough DA, *et al.* Oocyte-granulosa cell heterologous gap junctions are required for the coordination of nuclear and cytoplasmic meiotic competence, *Dev Biol*, 2000, 226(2): 167-179

[15] Gardner RL. Specification of embryonic axes begins before cleavage in normal mouse development, *Development*, 2001, 128(6): 839-847

[16] Ciemerych MA, Mesnard D, Zernicka-Goetz M. Animal and vegetal poles of the mouse egg predict the polarity of the embryonic axis, yet are nonessential for development, *Development*, 2000, 127(16): 3467-3474

[17] Etienne-Manneville S, Hall A. Rho GTPases in cell biology, *Nature*, 2002, 420(6919): 629-635

[18] Etienne-Manneville S, Hall A. Cell polarity: Par6, aPKC and cytoskeletal crosstalk, *Curr Opin Cell Biol*, 2003, 15(1): 67-72

[19] Macara LG. Parsing the polarity code, *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2004, 5(3): 220-231

[20] Wiggin GR, Fawcett JP, Pawson. T. Polarity proteins in axon specification and synaptogenesis, *Dev Cell*, 2005, 8(6): 803-816

[21] Mertens AE, Rygiel TP, Olivo C, *et al.* The Rac activator Tiam1 controls tight junction biogenesis in keratinocytes through bingding to and activation of the Par polarity complex, *J Cell Biol*, 2005, 170(7): 1029-1037

[22] Vinot S, Le T, Maro B, *et al.* Two PAR6 proteins become asymmetrically localized during establishment of polarity in mouse oocytes, *Curr Biol*, 2004, 14(6): 520-525

[23] Piotrowska K, Zernicka-Goetz M. Role for sperm in spatial patterning of the early mouse embryo, *Nature*, 2001, 409 (6819): 517-521

[24] Plusa B, Piotrowska K, Zernicka-Goetz M. Sperm entry position provides a surface marker of the first cleavage plane of the mouse zygote, *Genesis*, 2002, 32(3): 193-198

[25] Hiiragi T, Solter D. First cleavage plane of the mouse egg is not predetemined but defined by the topology of the two apposing pronuclei, *Nature*, 2004, 430(6997): 360-364

[26] Gardner, Davies. An investigation of the origin and significance of bilateral symmetry of the pronuclear zygote in the mouse, *Hum Reprod*, 2006, 21(2): 492-502

[27] Burgess. Cytokinesis, the establishment of early embryonic cell polarity, *Biochem Soc Trans*, 2008, 36(Pt3): 384-386

Relationship between Cell Polarity and Oocyte Maturation or Early Embryo Development

Jun-Chao Wang, Zi-Jiang Chen*

(*Key Laboratory of Reproductive Medicine, Shandong Province, China; Center for Reproductive Medicine, Provincial Hospital Affiliated to Shandong University, Jinan 250021, China*)

Abstract Cell polarity is a fundamental property of cells so that the cells can achieve their function. When oocytes develop into a fertilizable competent state, to some extent it is a highly polarized cell. There are many molecular mechanisms being involved in the formation of polarity. However, three important clues which were developed during the progress of oocyte growth, maturation and fertilization, are deeply related with the polarity of early preimplantation embryos and subsequently affect the development of embryos.

Key words cell polarity; oocyte; embryo development

Received: November 26, 2008 Accepted: July 16, 2009

This work was supported by the Natural Science Foundation of Shandong Province (No.Z2002C05)

*Corresponding author. Tel: 86-531-85187856, E-mail: zjchen59@yahoo.com